

como para convertirse en trágico, pero creemos que hay que enfrentarlo antes de que llegue a ellas. La intervención temprana es muy importante. Y hay otros ejemplos, el cambio climático está trayendo retos en salud global como que algunas enfermedades tropicales ya están instaladas en la cuenca mediterránea (como el dengue), y otras se están acercando mucho porque se acercan los vectores que las transmiten (mosquitos, garrapatas...) ya que las temperaturas son más suaves. Estas enfermedades tropicales que nos van a llegar son muy difíciles de curar. Y un tercer tipo de reto, que no conocemos tan bien pero que esta plataforma nos tiene que permitir estar también preparados frente a ellos, son las pandemias causadas por agentes infecciosos, en particular por

virus. Un ejemplo es la gripe aviar, que llevábamos tiempo esperándola. Lo que pasa es que es cierto que, en el Sudeste Asiático, donde surgen cada par de años brotes gravísimos de nuevas cepas de gripe aviar con una letalidad del 30-50%, los están conteniendo porque están muy preparados y porque hemos tenido la suerte de que estos brotes hasta ahora no han surgido con las mutaciones que les permitan transmitirse entre personas. Eso es una suerte, pero no nos podemos confiar. Así que hay que estar preparados para otra pandemia viral en cualquier momento, no lo sabemos, seguro que en la próxima década puede haber una; e incluso nos podría llegar cuando todavía no hemos conseguido controlar la actual a nivel global. Así que hay que estar muy preparados.

Investigación en el CIB Margarita Salas para atajar la crisis de la COVID-19

María del Carmen Fernández Alonso

Doctora en Ciencias Químicas del CIB Margarita Salas

El 31 de diciembre de 2019 se comunican en la ciudad de Wuhan, en el centro de China, varios casos de una neumonía atípica de origen desconocido. Al parecer, la mayoría de esas infecciones se relacionan con un mercado de pescados y mariscos, en el que se comercializan animales vivos, y que se cierra el 1 de enero. El 9 de enero de 2020, las autoridades chinas confirman la presencia de un virus desconocido, de tipo coronavirus, en 15 de los 59 casos de neumonía detectados hasta ese momento. No hay todavía ningún caso mortal, y no parece que exista transmisión entre personas. El 10 de enero, a una velocidad sin precedentes, se hace público el genoma completo del virus causante de la neumonía del brote de Wuhan. Al día siguiente, los análisis filogenéticos lo relacionan con el grupo 2B de los coronavirus, dentro de la misma familia que el SARS. El primer fallecimiento llega el 12 de enero, un hombre de 61 años con una enfermedad hepática crónica y que frecuentaba el mercado de Wuhan. Un día después, el 13, ya está disponible el protocolo para detectar este nuevo virus, al que se denomina SARS-CoV-2, mediante RT-qPCR. El 17 de enero se deposita su secuencia en GeneBank.

Esta línea de tiempo que marca los puntos iniciales de la historia de este nuevo coronavirus nos da ya una idea de la velocidad sin precedentes a la que la comunidad científica se ha organizado de cara a la lucha contra el SARS-CoV-2 y la búsqueda de tratamientos eficaces para la COVID-19, la enfermedad causada por este virus. Al mismo y acelerado ritmo en que el virus se ha extendido por todo el planeta, los científicos han puesto todos sus recursos y herramientas a disposición de la in-

vestigación: ¿quién y cómo es el SARS-CoV-2?, ¿cómo ataca al organismo?, ¿de qué medios disponemos para identificarlo? ¿y para atacarlo?

En este contexto, y como ya hemos descrito en esta newsletter, el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) acaba de constituir la [Plataforma Temática Interdisciplinar \(PTI\) Salud Global](#) que, inicialmente, se orientará al estudio de la pandemia de la COVID-19 desde un abordaje plural que cubra todos los ángulos de esta pandemia. Diversos grupos del CIB Margarita Salas forman parte de esta plataforma. Desde el centro se han lanzado numerosas iniciativas para atajar la crisis desatada por esta pandemia. Algunas han sido ya mencionadas en el editorial de esta newsletter, aquí nos centraremos en los proyectos de investigación que están en marcha dentro de la PTI Salud Global.

Por lo que conocemos hasta el momento, el virus se contagia a través de las secreciones de personas infectadas, principalmente por contacto directo con gotas respiratorias de más de 5 micras (capaces de transmitirse a distancias de hasta 2 metros), y a través de las manos o los fómites contaminados con estas secreciones cuando nos tocamos la boca, nariz u ojos. Penetra en la célula empleando como receptor a la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE-2 por sus siglas en inglés), presente fundamentalmente en el riñón, los pulmones y el corazón. La ACE2 se ha relacionado con la protección frente a la hipertensión, la arteriosclerosis y otros procesos vasculares y pulmonares, y en el caso de este virus reconocería a la proteína S (spike) expresada en su superficie. La sintomatología clínica de la COVID-19 es variada, siendo sus principales indicativos fiebre alta, tos seca y problemas respiratorios. En casos graves se ha observado la presencia de niveles elevados de Interleuquina-6 y otras citoquinas proinflamatorias, indicando

que esos pacientes pueden sufrir un síndrome denominado “tormenta de citoquinas”, que se produce cuando se activa un número elevado de leucocitos (neutrófilos, macrófagos y mastocitos) y se liberan grandes cantidades de citoquinas proinflamatorias.

Mecanismos de inflamación en la infección por SARS-CoV-2

Actualmente, desconocemos la fisiopatología del SARS-CoV-2, en especial la razón por la cual ciertas personas responden a la infección con una inflamación excesiva que puede llegar a ser la causa de la gravedad en la infección o incluso la muerte. El proyecto INFLACOVID propuesto por la [Dra. María Montoya](#), del grupo de Inmunología Viral, se centra precisamente en estudiar cuáles son estos mecanismos de inflamación.

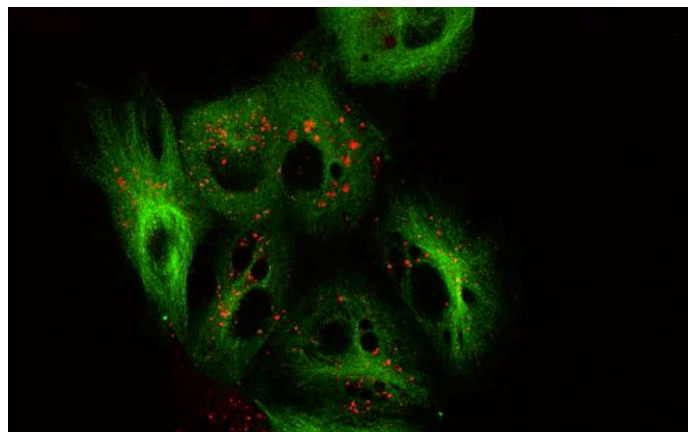
En una primera fase del proyecto se generará una plataforma para establecer los determinantes virales que modulan la inflamación y/o muerte celular. En una segunda fase, las herramientas y conocimientos obtenidos se aplicarán para desarrollar nuevas estrategias para controlar la inflamación con vistas a utilizarse como posibles tratamientos en pacientes graves. La información detallada de la interacción del SARS-CoV-2 con el sistema inmune del hospedador servirá para desentrañar los mecanismos de inflamación persistente pulmonar y las posibles vías para reducir el riesgo de inflamación excesiva causada por el virus. Para la realización del proyecto, el grupo de la Dra. Montoya colaborará con la universidad de Córdoba, el Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC) y el Instituto de Parasitología y Biomedicina López Neyra en Granada.

Interrupción de los procesos virales de transporte mediados por microtúbulos

Los microtúbulos (MTs) son un constituyente esencial del citoesqueleto, crucial en el tráfico intracelular, y representan una de las vías más empleadas para el ingreso y/o la salida de viriones en múltiples procesos infecciosos. Los Beta-coronavirus no son una excepción y dependen de los MTs para su internalización celular y posterior liberación. En el caso concreto del SARS-CoV-2, altos niveles de citoquinas en sangre están relacionados con el agravamiento de la enfermedad, una hiperactivación retroalimentada del sistema inmunológico desencadena la “tormenta de citoquinas”. El tráfico intracelular de citoquinas y su correcta localización en la sinapsis inmunológica también es dependiente de los MTs.

La modulación de los microtúbulos podría constituir una vía bivalente, aún no explotada, para el tratamiento de infecciones virales y, en particular, las causantes del Síndrome Respiratorio Agudo Grave (SARS, en inglés).

Teniendo en cuenta el amplio abanico de procesos virales en los que participa de forma activa el citoesqueleto y en particular los MTs, un fármaco dirigido contra éstos podría actuar simultáneamente en frenar la actividad viral y evitar la liberación exacerbada de citoquinas.



Herramienta para evaluar compuestos (laboratorio F. Díaz): movimiento de péptido viral (rojo) sobre microtúbulos (verde)

El [proyecto](#) coordinado por el grupo de Agentes Estabilizantes de Microtúbulos dirigido por el [Dr. Fernando Díaz](#) se centra en evaluar el efecto y la dosis-respuesta de agentes en uso clínico frente a MTs en la inhibición de la replicación vírica en células A549 de tumores de pulmón, para valorar la disponibilidad terapéutica de éstos en pacientes de mal pronóstico afectados por la COVID-19. En colaboración con la Dra. Covadonga Alonso (INIA), se realizará un cribado exhaustivo para encontrar compuestos que inhiban de manera eficiente la replicación vírica y determinar la concentración a la que se produce esta inhibición. Con ello se busca bloquear la localización de proteínas víricas y citoquinas a través del citoesqueleto. En el grupo de Biosensores y Química Biológica del CIB Margarita Salas, dirigido por la [Dra. Valle Palomo](#), también participante en el proyecto, se están diseñando y sintetizando las diferentes secuencias peptídicas de unión a transportadores moleculares que usan los microtúbulos como guía. Estos péptidos se conjugarán con diferentes fluoróforos, incluyendo nanopartículas luminiscentes Quantum Dots, para poder observar el transporte intracelular asociado a MTs.

Investigación de la interacción del SARS-CoV-2 y el huésped a nivel proteómico.

Son muchos otros los aspectos que todavía desconocemos acerca de la interacción del SARS-CoV-2 con su huésped. Intentando profundizar en el conocimiento de este proceso, el [Dr. Ignacio Casal](#) participa en el proyecto coordinado por el Dr. Fernando Corrales (CNB) que pretende estudiar esta interacción a nivel proteómico.

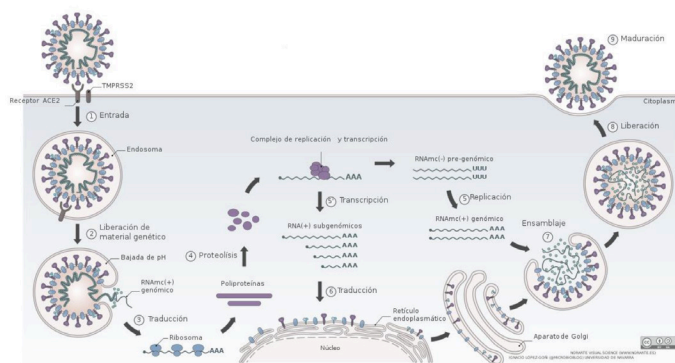
Este proyecto agrupa a los 22 laboratorios de la red ProteoRed-ISCI, que abordarán de manera coordinada los siguientes objetivos: (1) estudiar la respuesta in-

munológica de pacientes de COVID-19 para identificar epítomos virales y perfiles de anticuerpos que permitan elaborar estrategias de vacunación, estratificación, e identificación de individuos protegidos, (2) caracterizar el proteoma del suero de pacientes para elaborar métodos de pronóstico y seguimiento, (3) establecer una plataforma de control de calidad de los productos de naturaleza peptídica que se sintetizarán en este y otros proyectos relacionados, y (4) caracterizar la interacción del proteoma viral con la célula infectada. Estos objetivos facilitarán nuevas estrategias de diagnóstico, terapia y vacunación, necesarias para controlar la presente y futuras pandemias.

Se sabe que muchos virus humanos utilizan las integrinas como receptores moleculares y se ha propuesto que puedan actuar como un co-receptor alternativo a la ACE2 para el SARS-CoV-2, pudiendo estar implicadas en su transmisión y patología. Los sitios RGD (un tripéptido Arg-Gly-Asp) son motivos estructurales de unión a integrinas, que se encuentran presentes en muchas proteínas. En el caso de este nuevo coronavirus, su proteína S adquirió un motivo RGD que estaba ausente en otros miembros de esta familia de virus. En este contexto, el grupo de Mecanismos de Metástasis Tumoral dirigido por el Dr. Casal se centrará en el estudio del motivo RGD presente en la proteína S del virus SARS-CoV-2 y la posibilidad de que pueda ser bloqueado por anticuerpos, impidiendo así la unión del virus a integrinas en lo que podría constituir una interesante diana terapéutica alternativa al receptor ACE-2. Ya existen anticuerpos desarrollados frente a este motivo RGD en el caso de la proteína Cadherina 17 (CDH17) humana y se estudiará su potencial utilidad para bloquear también el sitio RGD del SARS-CoV-2.

Aproximación para bloquear la entrada del SARS-CoV-2 mediante antivirales y fragmentos-señuelo de ACE2

La identificación de inhibidores, en este caso dirigidos a la unión del SARS-CoV-2 con el receptor ACE2, es el objetivo del proyecto multidisciplinar coordinado por la [Dra. Sonsoles Martín Santamaría](#) junto a M^a Jesús Pérez (IQM-CSIC). Bloquear la entrada del virus en las células es un paso que resulta clave en el ciclo de replicación de este. El enfoque colaborativo de este proyecto, donde participan también investigadores de otros centros del CSIC como el IBV, IQM, y el I2SysBio, aborda este desafío desde una perspectiva multidisciplinaria que va de los enfoques atómicos y moleculares hasta la evaluación biológica completa. Para ello se combina la selección experimental y computacional de bibliotecas para identificar compuestos con actividad novedosa como inhibidores de la entrada del virus; el diseño de inhibi-



Replicación del SARS-CoV-2 dentro de las células. Vega Asensio (Norarte) e Ignacio López-Goñi (UNAV)

dores peptídicos derivados de ACE2 mediante mutagénesis dirigida; así como el diseño y síntesis de compuestos modificados para mejorar las propiedades de unión. Esta estrategia permitirá generar moléculas pequeñas y proteínas terapéuticas que podrían ser posibles candidatos para la prevención o el tratamiento de la COVID-19.

Dentro de este proyecto, el grupo de Química Biológica Computacional, dirigido por la Dra. Sonsoles Martín Santamaría, llevará a cabo estudios computacionales para obtener un modelo de la interacción entre la proteína S del SARS-CoV-2 y el receptor ACE2, que permita el diseño de inhibidores y el screening virtual frente a bases de datos de medicamentos genéricos (reposicionamiento de medicamentos) y otras colecciones (comerciales y propias).

Reprogramación metabólica del hospedador en la infección viral

Cuando un virus infecta a un organismo, secuestra el metabolismo celular de las células infectadas para proveerse de la energía y de los precursores para la síntesis de las macromoléculas necesarias para la generación de nuevas partículas virales. De esta manera, en la célula infectada se induce un cambio metabólico que recuerda al que se produce en las células tumorales. En el caso de los coronavirus, no disponemos de información acerca de su efecto específico en el metabolismo energético de sus células hospedadoras.

El proyecto liderado por el investigador [Eduardo Rial](#), del grupo de Metabolismo Energético y Desarrollo de Fármacos, persigue el estudio de la reprogramación metabólica del hospedador inducido por el virus SARS-CoV-2. El conocimiento de los mecanismos moleculares de este proceso debería servir de indicativo de la evolución de la infección y permitiría evaluar la eficacia de fármacos específicos que puedan revertir la reprogramación del metabolismo celular. Estos compuestos serían potenciales agentes antivirales y supondría el reposicionamiento de fármacos de uso clínico.

Reposicionamiento de fármacos

Son varios los proyectos propuestos desde el CIB Margarita Salas que buscan encontrar medicamentos eficaces para el tratamiento de pacientes de COVID-19 mediante el reposicionamiento de fármacos.

El grupo de Química Médica y Biológica Traslacional dirigido por las [Dras. Ana Martínez, Carmen Gil y Nuria Campillo](#) trabaja en la identificación de fármacos en uso comercial o en desarrollos clínicos en marcha que puedan iniciar de inmediato un ensayo clínico fase II/III. A partir de quimiotecas de compuestos aprobados por la FDA o la EMA y mediante cribados virtuales utilizando diferentes metodologías y estrategias quimiinformáticas se están identificando fármacos que tras su evaluación frente a coronavirus se propondrán como terapia de reposicionamiento para COVID-19.



Parte de la biblioteca de compuestos del grupo de Ana Martínez, Carmen Gil y Nuria Campillo

También se estudiará el posible reposicionamiento de inhibidores de GSK-3 para el tratamiento de la COVID-19. Esta familia de compuestos ya había mostrado actividad antiviral en infecciones previas por coronavirus. Dado que tideglusib, un inhibidor ATP-no competitivo de GSK-3 diseñado por este grupo, está en fases clínicas avanzadas, está siendo evaluado actualmente frente a SARS-CoV-2 en colaboración con el grupo de cribado antiviral dirigido por Pablo Gastaminza en el Centro Nacional de Biotecnología. Los resultados iniciales son alentadores, estando pendientes de los estudios finales para el diseño de un ensayo clínico *ad hoc*.

Paralelamente al reposicionamiento, se está llevando a cabo otra aproximación para la identificación rápida de compuestos basada en los fármacos actualmente empleados en los pacientes de COVID-19, en lo que se conoce como *screening* virtual por similitud. Adicionalmente, se propone la identificación de dianas farmacológicas alternativas para la entrada del virus en el huésped a partir del conocimiento generado en los proyectos en curso, así como un estudio proteómico de la glicoproteína S del

virus. Los primeros estudios han permitido la selección de un centenar de compuestos dirigidos a nueve dianas diferentes que están siendo ya evaluados en el CNB. En caso de tener éxito en la estrategia propuesta, el impacto social será enorme pudiendo incluso llegar a aplicarse en pacientes de la actual pandemia.

Donación de librerías de compuestos para su evaluación farmacológica frente al SARS-CoV-2

El grupo de Agentes Estabilizantes de Microtúbulos del CIB Margarita Salas dirigido por el [Dr. Fernando Díaz](#) dispone de una de las mayores bibliotecas mundiales de compuestos moduladores de MTs, conteniendo todos los fármacos moduladores de MTs en uso clínico y una gran variedad que está en proceso de estudio. Esta librería de compuestos se ha donado al CNB, al grupo de Pablo Gastaminza, para ser evaluada en la búsqueda de compuestos que inhiban de manera eficiente la replicación vírica.

Adicionalmente, el grupo de Metabolismo Energético y Desarrollo de Fármacos, codirigido por el [Dr. José María Sánchez-Puelles](#), ha donado también al CNB para su evaluación la librería comercial de compuestos Spreswick, que contiene una colección de más de mil fármacos fuera de patente, de una gran diversidad química y farmacológica, así como de biodisponibilidad y seguridad conocidas en humanos, dirigidas a más de 400 dianas terapéuticas.

Desarrollo de una vacuna basada en ADN recombinante

Además de las estrategias destinadas al descubrimiento de un nuevo fármaco o reposicionamiento de alguno ya conocido para paliar los efectos de la infección por SARS-CoV-2, en el CIB Margarita Salas se desarrollará también un [proyecto de búsqueda de una vacuna](#) que prevenga el contagio por el virus.

En este contexto, el Grupo de Parasitología Molecular dirigido por [Vicente Larraga](#), Profesor de Investigación *ad Honorem*, propone utilizar una vacuna novedosa de ADN recombinante que introduce, en lugar del parásito atenuado -o un fragmento del mismo- o una proteína purificada, el gen de un antígeno del parásito que induzca protección frente a la infección del mismo.

Este grupo tiene la experiencia de haber desarrollado una vacuna con estas características, que protege frente a la leishmaniasis canina y que se encuentra ya en Fase IV (petición a la Agencia Europea del Medicamento del permiso de fabricación y comercialización). Esta vacuna utiliza como vehículo de vacunación un plásmido sintético de ADN (pPAL), desarrollado en el laboratorio del Prof. Larraga, que permite la integración del gen del

antígeno escogido del parásito en el material genético de las células del mamífero receptor. Estas células producirán entonces el antígeno, que será reconocido por el Sistema Inmune del animal vacunado e inducirá protección cuando se produzca la infección natural. Este vehículo tiene la ventaja adicional de que no necesita de la presencia de adyuvantes en la vacuna.

Este mismo procedimiento puede ser utilizado en el caso del virus SARS-CoV-2 ya que el vehículo desarrollado se ha diseñado para mamíferos, incluido el hombre, estando por tanto libre de secuencias que puedan resultar tóxicas. Para el caso del SARS-CoV-2 se han elegido como posibles antígenos protectores de vacunación (1) la proteína S de la superficie del virus, (2) sus subunidades S1 y S2, así como (3) el fragmento de unión al receptor ACE2 de la célula, que son las regiones utilizadas por el SARS-CoV-2 para anclarse en la membrana de la célula objetivo y penetrar en ella.

En estos momentos se están sintetizando las moléculas de ADN correspondientes que se introducirán en el vehículo previamente desarrollado. A continuación, se probaría su seguridad y eficacia frente a la infección por el virus en el modelo de ratón, bien en animales transfectados con el receptor humano de ACE2 o similares. Alternativamente, si se puede disponer de ellos, se utilizarían macacos. Si los resultados fueran positivos, se comenzarían las fases I y II de prueba en humanos. Una ventaja adicional del desarrollo de esta vacuna es que el proceso de escalado industrial del candidato a vacuna ya se ha realizado, lo que adelantaría notablemente la fase industrial de fabricación, las pruebas en humanos y su producción posterior.

Análisis científico, filosófico y social de la COVID-19: repercusión social, implicaciones éticas y cultura de la prevención frente a las pandemias

Abordar de manera integral el estudio de una pandemia conlleva también ocuparse de la repercusión social, los aspectos éticos y la integración cultural de la prevención frente a pandemias. Este es el objetivo del proyecto liderado por Matilde Canelles (IFS) dentro de la PTI Salud Global, en el que la participación del CIB Margarita Salas está coordinada por las [Dras. Mercedes Jiménez](#) y [Nuria E. Campillo](#).

Este proyecto multidisciplinar se plantea la consecución de varios objetivos complementarios a corto, medio y largo plazo, desde diversas perspectivas. Por un lado, canalizar el impacto social de la COVID-19 y estimar los dilemas éticos

asociados a esta situación inédita que puede repercutir nocivamente en la convivencia, a través del procesamiento de datos bibliográficos, estadísticas, entrevistas, big data, etc. Asimismo, pretende contribuir a informar sobre la adopción de medidas estables contra las pandemias, motivando la corresponsabilidad ciudadana y buscando divulgar medidas tendentes a afianzar una cultura de la prevención y un cambio de conducta, así como considerar la inevitable repercusión de los cambios sociales que se avecinan.

La contribución de las Dras. Jiménez y Campillo está orientada al diseño, desarrollo e implantación de medidas y herramientas informativas de salud pública para responder eficazmente a la epidemia, mediante la generación de todo tipo de materiales, incluidos los audiovisuales, sobre pandemias, alertas sanitarias, medidas de prevención, efectos sobre diferentes sectores de la población, así como la difusión eficiente de este material entre la población mediante medios de comunicación de masas, redes sociales, asociaciones, centros de ocio y centros educativos, entre otros.

En diciembre de 2019 el mundo conoció la llegada de un nuevo virus de origen animal, con la capacidad de infectar a humanos, transmitirse de manera muy eficiente entre ellos y causarles serios problemas de salud. De inmediato, la comunidad científica se organizó para buscar respuesta a las nuevas cuestiones que se planteaban para atajar la pandemia. También en el CIB Margarita Salas, como hemos mostrado, se han adaptado varias líneas de investigación para luchar contra esta emergencia sanitaria desde la experiencia adquirida durante décadas de trabajo. Es así, en base al conocimiento acumulado de manera rigurosa y sistemática, como podemos enfrentarnos no solo a la presente pandemia sino a los retos sanitarios y medioambientales que se nos presenten en el futuro.

